

· 论 著 ·

IL-17A、IL-17F 和 IL-23R 基因多态性与结直肠癌易感性关系研究

李洪波, 匡黎[△]

湖北医药学院附属东风医院肿瘤科, 湖北十堰 431017

摘要:目的 探究白细胞介素-17A(IL-17A)、IL-17F 和 IL-23R 基因多态性与结直肠癌易感性的关系。
方法 收集该院 2016 年 5 月至 2019 年 5 月确诊的 140 例结直肠癌患者(实验组)和 100 例进行健康体检的体检健康者(对照组)资料,抽取外周血样血细胞 DNA 后,利用聚合酶联反应-连接酶反应检测技术(PCR-LDR)分型技术检测样本中 IL-17A(rs2275913)位点、IL-17F(rs763780)位点和 IL-23R(rs10889677)位点基因多态性。
结果 两组 IL-17A(rs2275913) TT、TC 和 CC 分布情况差异无统计学意义($P>0.05$)。实验组 IL-17F(rs763780) TT、TC 和 CC 分布情况与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),但其等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$)。实验组 IL-23R(rs10889677) TT、TC 和 CC 分布情况与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),但其等位基因分布比较差异无统计学意义($P>0.05$)。IL-17F(rs763780)单核苷酸基因频率与肿瘤分期相关,纯合子 TT 在中重度患者中分布明显少于轻度患者,差异有统计学意义($P<0.05$),且肿瘤位于升结肠的纯合子 TT 基因频率明显异于其他部位,差异有统计学意义($P<0.05$);IL-23R(rs10889677)位点单核苷酸基因频率与肿瘤分期及肿瘤部位差异无统计学意义($P>0.05$)。Logistic 回归分析显示,IL-17F(rs763780)Ⅲ、Ⅳ期患者中 TT 基因型明显异于其他(CT+CC)基因型,差异有统计学意义($P<0.05$);肿瘤位于升结肠患者中 IL-23R(rs10889677)CC 基因型明显异于其他(TT+TC)基因型,差异有统计学意义($P<0.05$)。
结论 IL-17F(rs763780)和 IL-23R(rs10889677)可能影响结直肠癌患者的易感性,其多核苷酸多态性分别与患者肿瘤分期、肿瘤部位相关。

关键词:白细胞介素-17A; 白细胞介素-17F; 白细胞介素-23R; 基因多态性; 结直肠癌

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.20.021 **中图法分类号:**R735.34

文章编号:1673-4130(2021)20-2527-05 **文献标志码:**A

Relationship of IL-17A, IL-17F and IL-23R gene polymorphisms with susceptibility to colorectal cancer

LI Hongbo, KUANG Li[△]

Department of Oncology, Dongfeng Hospital Affiliated of Hubei University of Medicine, Shiyan, Hubei 431017, China

Abstract: **Objective** To explore the relationship between interleukin (IL)-17A, IL-17F and IL-23R gene polymorphisms and colorectal cancer susceptibility. **Methods** A total of 140 patients with colorectal cancer (experiment group) and 100 healthy patients (control group) from May 2015 to May 2019 were collected. After extracting DNA from peripheral blood samples, the gene polymorphism of IL-17A rs2275913 locus, IL-17F rs763780 locus and IL-23R rs10889677 locus in the sample were detected by polymerase chain reaction ligase reaction (PCR-LDR) typing. **Results** There was no significant difference in the distribution of IL-17A (rs2275913) TT, TC and CC between the two groups ($P>0.05$). There were significant differences in the distribution of TT, TC and CC of IL-17F (rs763780) between the experience group and the control group ($P<0.05$), but there was no significant difference in the distribution of alleles ($P>0.05$). There were significant differences in the distribution of TT, TC and CC of IL-23R (rs10889677) between the experience group and the control group ($P<0.05$), but there was no significant difference in the distribution of alleles ($P>0.05$). The frequency of IL-17F (rs763780) single nucleotide gene was correlated with tumor stage, the distribution of homozygous TT in moderate to severe patients was significantly less than that in mild patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). The frequency of homozygous TT gene in ascending co-

作者简介:李洪波,男,副主任医师,主要从事肿瘤学方面的研究。 [△] **通信作者,** E-mail: syykony@163.com。

本文引用格式:李洪波, 匡黎. IL-17A、IL-17F 和 IL-23R 基因多态性与结直肠癌易感性关系研究[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(20): 2527-2530.

lon was significantly different from that in other parts ($P<0.05$). The frequency of IL-23R (rs10889677) single nucleotide gene was not significantly different from that in tumor stage and tumor location ($P>0.05$). Logistic regression analysis showed that TT genotype was significantly different from other (CT+CC) genotypes in IL-17F (rs763780) stage III and IV patients, and the difference was statistically significant ($P<0.05$). IL-23R (rs10889677) CC genotype in patients with tumor located in ascending colon was significantly different from other (TT+TC) genotypes ($P<0.05$). **Conclusion** IL-17F (rs763780) and IL-23R (rs10889677) may affect the susceptibility of colorectal cancer patients, and their polymorphisms are related to tumor stage and tumor location.

Key words: interleukin-17A; interleukin-17F; interleukin-23R; gene polymorphism; colorectal cancer

结直肠癌(CRC)是从结肠或直肠发展而来的癌症,年龄增加、不良生活方式和潜在遗传性疾病都是其影响因素^[1]。一些遗传性疾病也是导致诱发结直肠癌的原因,包括家族性腺瘤性息肉病(FAP)和遗传性非息肉病性结直肠癌(HNPCC)^[2-3]。现阶段,可以通过在结肠镜检查期间获取结直肠样本来诊断CRC,然后通过医学成像来确定疾病是否扩散^[4],但目前尚未完全预防和控制CRC。近期研究主要集中于白细胞介素(IL)介导的信号通路对结直肠癌细胞凋亡、迁移或侵袭的影响,或IL这类炎症相关指标对其他疾病(胃癌)易感性及其预后的影响,目前暂无详尽结直肠癌多样性的相关研究^[5-7]。有报道显示,IL-17和IL-23R的某些等位基因可能与结直肠癌肿瘤进展风险降低相关,故本研究针对IL-17和IL-23R基因多样性与CRC易感性展开研究,现报道如下^[8]。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2016年5月至2019年5月于本院进行治疗的140例CRC患者设为实验组。其中男78例,女62例,年龄31~68岁,平均(47.19±8.56)岁。实验组中结肠癌(CC)患者78例,直肠癌(RC)患者62例;TNM分期I~II期58例,III期44例,IV期38例;肿瘤位于升结肠42例,横结肠34例,降结肠34例,直肠30例;腺癌120例,黏液腺癌14例,印戒细胞癌6例,其中中高分化50例,低分化90例;平均病程(5.64±2.11)年。纳入标准:符合CRC诊断标准^[9],年满18周岁,首次接受治疗,有病检样本,临床和诊断治疗齐全。排除标准:患胃部疾病(胃镜确诊),有胃肠道手术史,有恶性肿瘤病史,对治疗药物过敏者,有近期相关治疗史者。另外选取2014年5月至2017年5月于本院进行体检的100例体检健康者作为对照组,其中男54例,女46例,年龄32~69岁,平均(47.56±8.49)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本次研究对象选取及其后续实验均受本院伦理委员会批准,全部患者均自愿参与。

1.2 检测方法

1.2.1 DNA样收集 于清晨(9:00前)抽取所有被研究对象的外周静脉血2 mL,加入抗凝剂(EDTA-K2)后4℃下离心分离得到血细胞,使用试剂盒(GenElute, Sigma-Aldrich, 美国)抽提血细胞DNA,然后利用琼脂糖凝胶检验目标DNA纯度和完整性,-80℃保存备用。

1.2.2 基因多态性检验 利用聚合酶链反应-连接酶反应检测技术(PCR-LDR)检验IL-17A/F和IL-23R基因多态性,其中IL-17A rs2275913位点的扩增长度为494 bp,上游引物为5'-CGG AAT TGT CTC CAC AAC AC-3';下游引物为5'-CAG GAG TCA TCG TTG TTT CT-3',特异性引物扩增IL-17A基因的目的基因片段。IL-17F rs763780位点的扩增长度为401 bp,上游引物为5'-GCA AAC AAA CAC CTG AAG TA-3';下游引物为5'-GTT CCC ATC CAG CAA GAG AC-3',特异性引物扩增IL-17F基因的目的基因片段。IL-23R rs10889677位点的扩增长度为453 bp,上游引物为5'-CAA TCT TGT TTC CAG AGT AGT GAC-3',下游引物为5'-AAA AAT ACA TGA GGC GTC CA-3'。具体操作如下:引物和探针由上海百研生物科技公司完成合成,将DNA样本稀释至10 ng/μL后加1 μL至反应体系(包含引物混合物1 μL, Master mix 5 μL和3 μL ddH₂O)。置入PCR仪,94℃下2 min变性后,进行11个94℃(20 s)-65℃(40 s)-72℃(60 s)的循环,在进入94℃(20 s)-59℃(30 s)-72℃(90 s)的24个循环,最后72℃120 s。随后加入1 μL ExoI/SAP酶,37℃下恒温1 h后灭活。使用试剂盒进行双链接反应,将稀释后的连接产物送上海生工生物公司测序,使用DNAMAN 9.0分析数据。IL-17A选择rs2275913位点,IL-17F选择rs763780位点,IL-23R选择rs10889677位点。

1.3 统计学处理 采用SPSS 24.0统计学软件进行统计学分析,采用Hardy-Weinberg对数据平衡状态检验。符合正态分布的计量资料使用均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验。计数资料使用例数和百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。相对危险度经Lo-

gistic 回归分析,以 *OR* 和 95%*CI* 表示,其中 *OR* 为优势比(Odd Ratio),95%*CI* 为 95% 置信区间。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 高通量测序序列基本信息 使用 illuminate 平台目的基因高变区进行测序,数据获取剔除低质量 reads 后进行拼接,所获 Tags 平均拼接率约为

95.00%,结果较为理想,见表 1。

2.2 两组 IL-17A 基因及其等位基因频率比较 两组 IL-17A(rs2275913)TT、TC 和 CC 分布情况比较差异无统计学意义($P>0.05$)。实验组 IL-17F(rs763780)TT、TC 和 CC 分布情况与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),但其等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 1 高通量测序序列基本信息

组别	基因和位点	序列长度(bp)	测序序列	拼接序列标签	操作分类单位	拼接率(%)
实验组	IL-17A	290	64155	61745	1118	96.24
	IL-17F	288	51771	47629	1361	94.75
	IL-23R	461	85867	79853	979	93.34
对照组	IL-17A	290	60759	57721	1375	95.24
	IL-17F	288	52962	56342	1430	94.09
	IL-23R	461	84588	80358	1038	95.27

表 2 两组 IL-17A/F 基因及其等位基因频率比较[n(%)]

组别	<i>n</i>	IL-17A(例数/频数)			T 频率 (%)	IL-17F(例数/频数)			C 频率 (%)
		TT	TC	CC		TT	TC	CC	
实验组	140	10(7.14)	66(47.14)	64(45.72)	30.71	98(70.00)	42(30.00)	0(0.00)	15.00
对照组	100	8(8.00)	40(40.00)	52(52.00)	28.00	82(82.00)	14(14.00)	4(4.00)	18.00
χ^2		5.493			0.206	13.120			0.808
<i>P</i>		0.064			0.650	0.001			0.369

2.3 两组 IL-23R 基因及其等位基因频率比较 实验组 IL-23R(rs10889677)TT、TC 和 CC 分布情况与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),但其等位基因分布差异无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

表 3 两组 IL-23R 基因及其等位基因频率比较 [n(%)]

组别	<i>n</i>	IL-23R(例数/频数)			T 频率 (%)
		TT	TC	CC	
实验组	140	108(77.14)	20(14.29)	12(8.57)	84.29
对照组	100	74(74.00)	26(26.00)	0(0.00)	87.00
χ^2		12.823			0.345
<i>P</i>		0.002			0.557

2.4 IL-17F 和 IL-23R 多态性与 CRC 患者临床表现间的关系 IL-17F(rs763780)单核苷酸基因频率与肿瘤分期相关,纯合子 TT 在中重度患者中分布明显少于轻度患者,差异有统计学意义($P<0.05$),且肿瘤位于升结肠的纯合子 TT 基因频率明显异于其他部位,差异有统计学意义($P<0.05$);IL-23R(rs10889677)位点单核苷酸基因频率与肿瘤分期及肿瘤部位差异无统计学意义($P>0.05$),见表 4。Logistic 回归分析显示,IL-17F(rs763780)Ⅲ、Ⅳ期患者中 TT 基因型明显异于

其他(CT+CC)基因型,差异有统计学意义($P<0.05$);肿瘤位于升结肠患者中 IL-23R(rs10889677)CC 基因型明显异于其他(TT+TC)基因型,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 5。

表 4 同临床表现患者 IL-17F 和 IL-23R 等位基因及其突变的比较(*n*)

项目	<i>n</i>	IL-17F		IL-23R	
		TT	CT+CC	CC	TT+TC
肿瘤分期					
I ~ II 期	58	50	8	6	52
III 期	44	30	14	4	40
IV 期	38	18	20	2	36
χ^2		8.296		0.779	
<i>P</i>		0.016		0.678	
肿瘤部位					
直肠	30	14	16	2	28
降结肠	34	24	10	2	32
升结肠	42	36	6	6	36
横结肠	34	24	10	2	32
χ^2		12.728		2.516	
<i>P</i>		0.013		0.642	

表 5 IL-17F 和 IL-23R 多态性与 CRC 患者临床表现间的关系(95%CI)

项目	n	IL-17F		IL-23R	
		TT	CT+CC	CC	TT+TC
肿瘤分期					
I ~ II 期	58	1.14(0.54~1.72)	1.56(0.69~1.97)	1.03(0.52~2.03)	0.95(0.41~1.88)
III 期	44	0.87(0.60~1.45)	0.42(0.21~0.59) [#]	0.84(0.33~1.70)	0.76(0.27~1.82)
IV 期	38	0.75(0.49~1.15)	0.23(0.18~0.30) [#]	2.31(1.03~6.87)	2.01(0.89~7.57)
肿瘤部位					
直肠	30	0.96(0.29~3.77)	0.94(0.25~3.64)	2.06(0.66~7.31)	2.27(0.71~8.11)
降结肠	34	1.22(0.43~3.87)	1.28(0.40~4.33)	1.24(0.26~5.34)	1.37(0.45~6.17)
升结肠	42	1.50(0.60~3.74)	0.96(0.25~5.11)	3.11(2.22~4.35)	6.13(4.51~8.32) [#]
横结肠	34	1.16(0.52~2.78)	1.19(0.48~3.02)	2.02(0.85~5.46)	2.33(0.97~6.67)

注:与 TT 或 CC 组相比, [#] *P* < 0.05。

3 讨 论

IL-17 和 IL-23 都是促炎性细胞因子,IL-17 由 T 辅助细胞 17 产生,以响应 IL-23 得到刺激^[10]。近期相关研究发现 IL-17 和 IL-23R 的某些等位基因可能与结直肠癌肿瘤进展风险降低相关^[11]。在 IL-17 家族成员中,IL-17F 同种型 1 和 2(ML-1)与 IL-17A 具有最高的序列同源性(分别为 55%和 40%)^[1-3]。但是针对 IL-17F 的研究相对于 IL-17A 而言较少,且其在癌症发展中的作用尚不明确;另一方面,现阶段研究主要集中于 IL-17F 募集炎症因子、调节细胞因子或干预肿瘤血管生成方向^[13]。此外,其他 IL(如 IL-1s、IL-8 和 IL-10 等)虽然介导炎性反应,但未有明确结果证明他们基因的多态性影响肿瘤易感性。本研究发现实验组 IL-17F 的 rs763780 位点和 IL-23R 的 rs10889677 位点基因频率分布与对照组存在明显差异,这提示临床工作者 IL-17F 和 IL-23R 基因多态性可能和结肠癌存在一定的相关性。裴芳等^[14]研究显示病毒性心肌炎 IL-17A 多态位点 AA 基因型和 A 等位基因频率均显著高于对照组,这与本研究的结果类似。同时,IL-23 被证明可以促进许多其他免疫病理学模型中的炎症发展,包括关节炎模型,肠道炎症和牛皮癣;其中 IL-23R 作为 IL-23 信号传递因子也被证实与疾病易感性相关,与本研究结果一致^[15]。

本研究结果显示,IL-17F(rs763780)单核苷酸基因频率与肿瘤分期相关,纯合子 TT 在中重度患者中分布明显少于轻度患者,且肿瘤位于升结肠的纯合子 TT 基因频率明显异于其他部位。因而本文推测,IL-17F 的 rs763780 位点 T 向 C 的改变,可能增加 CRC 易感性;同理,IL-23R 的 rs10889677 位点 TC 向 CC 的改变,也有可能是肿瘤位于升结肠的标志。研究表明,IL-23 可以刺激 Th17 细胞的生长、分化和维持,而 IL-23 与存在于 T 淋巴细胞、NK 细胞和 DC 细胞上的 IL-23R 结合,介导这些细胞内信号传递,故其控制

肿瘤的发生和发展^[15-16]。而 Th17 细胞得到生长、增殖和分化又会产生大量 IL-17,从而形成 IL-23/IL-23R/Th-17/IL-17 通路。这些反应引起细胞内 DNA 的复制和转录异常,从而引发肿瘤的发生和发展^[17-18]。另一方面,本研究指出 IL-17F rs763780 位点和 IL-23R rs10889677 基因多态性与 CRC 病症相关,但本文仅针对该基因上的一个位点进行研究,下一步,本文也需要多位点分析,收集更多临床治疗,分析患者年龄和血清各指标参数等与 IL-17A/F 和 IL-23R 不同基因型与临床特征的差异。同时,本文分析了 CC 和 RC 患者 IL-17A/F 和 IL-23R 间时候存在基因频率差异,为临床诊断和治疗提供依据。

综上所述,IL-17F(rs763780)和 IL-23R(rs10889677)可能影响结直肠癌患者的易感性,其多核苷酸多态性分别与患者肿瘤分期、肿瘤部位相关。

参考文献

[1] REX D K,BOLAND C R,DOMINITZ J A,et al. Colorectal cancer screening: recommendations for physicians and patients from the U. S. multi-society task force on colorectal cancer[J]. Gastroenterology,2017,112(7):307-323.

[2] MORONI F, MURRAY G, BAIN G. PWE-051 small bowel adenocarcinoma: single centre experience over 6 years[J]. Gut,2016,65(Suppl 1):A163-A164.

[3] DIEDERICH S,BARTSCH L,BERKMANN J C,et al. The dark matter of the cancer genome: aberrations in regulatory elements, untranslated regions, splice sites, non-coding RNA and synonymous mutations[J]. EMBO Mol Med,2016,8(5):442-457.

[4] 梁小波,许艺玮. 结直肠癌多学科团队诊断与治疗的临床实践[J]. 中华消化外科杂志,2016,15(8):772-775.

[5] 丁子蓉. IL-17A 诱导胃癌细胞 SGC-7901 分泌 CXCL13 机制研究[J]. 国际检验医学杂志,2017,38(24):3432-3433.

(下转第 2535 页)